

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
29. März 2001 (29.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/21582 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **C07C 257/18**,  
279/22, A61K 31/155, A61P 13/12, 7/02, 9/10, 25/02

(74) Gemeinsamer Vertreter: **MERCK PATENT GMBH**;  
Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP00/08616**

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, CA, CH, CN, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

(22) Internationales Anmeldedatum:  
4. September 2000 (04.09.2000)

(25) Einreichungssprache: **Deutsch**

(26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**

(30) Angaben zur Priorität:  
199 45 302.0 22. September 1999 (22.09.1999) **DE**

(71) Anmelder (*für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US*): **MERCK PATENT GMBH** [DE/DE]; Frankfurter Strasse 250, 64293 Darmstadt (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (*nur für US*): **DORSCH, Dieter** [DE/DE]; Königsberger Strasse 17A, 64372 Ober-Ramstadt (DE). **RADDATZ, Peter** [DE/DE]; Im Kirschensand 27, 64665 Alsbach (DE). **BEIER, Norbert** [DE/DE]; Maximilian-Kolbe-Strasse 1, 64354 Reinheim (DE). **WILM, Claudia** [DE/DE]; Dahlienweg 24, 64291 Darmstadt (DE).

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

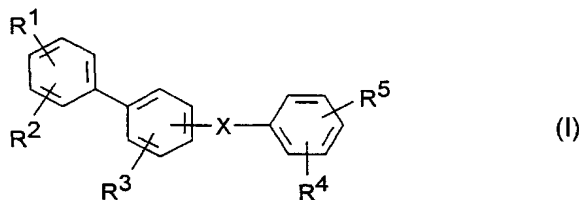
**Veröffentlicht:**

- Mit internationalem Recherchenbericht.
- Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

(54) Title: **BIPHENYL DERIVATIVES USED AS NHE-3 INHIBITORS**

(54) Bezeichnung: **BIPHENYLDERIVATE ALS NHE-3-INHIBITOREN**



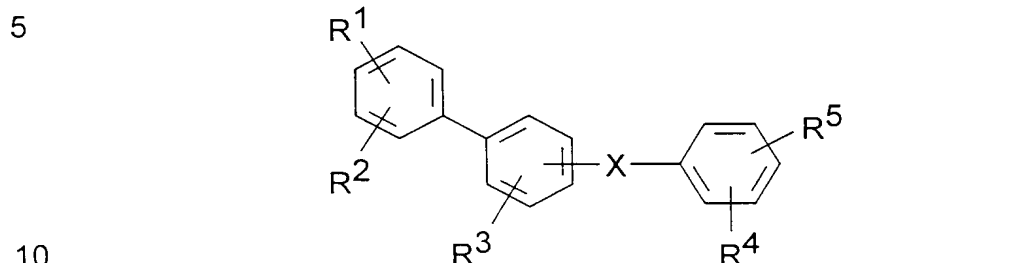
(57) Abstract: The invention relates to compounds of the formula (I), wherein X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> and R<sup>5</sup> have the meaning indicated in claim 1. The inventive compounds represent inhibitors of the subtype 3 sodium/proton exchanger (NHE-3).

(57) Zusammenfassung: Verbindungen der Formel (I), worin X, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> und R<sup>5</sup> die in Patentanspruch 1 angegebene Bedeutung haben, sind Inhibitoren des Natrium/Protonen-Austauschers Subtyp 3 (NHE-3).

WO 01/21582 A1

## Biphenylderivate als NHE-3-Inhibitoren

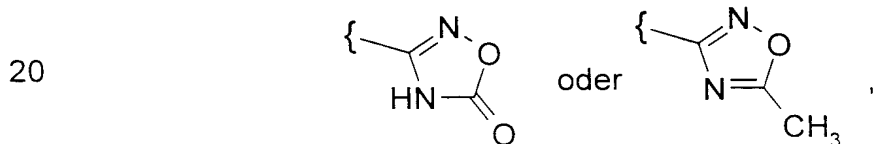
Die Erfindung betrifft Verbindungen der Formel I



worin

$R^1, R^4$  jeweils unabhängig voneinander  $-C(=NH)-NH_2$ , das auch einfach durch  $-COA$ ,  $-CO-[C(R^6)_2]_n-Ar$ ,  $-COOA$ ,  $-OH$  oder durch eine konventionelle Aminoschutzgruppe substituiert sein kann,

$NH-C(=NH)-NH_2$ ,  $-CO-N=C(NH_2)_2$ ,



$R^2, R^3, R^5$  jeweils unabhängig voneinander  $H$ ,  $A$ ,  $OR^6$ ,  $N(R^6)_2$ ,  $NO_2$ ,  $CN$ ,  $Hal$ ,  $NHCOA$ ,  $NHCOAr$ ,  $NHSO_2A$ ,  $NHSO_2Ar$ ,  $COOR^6$ ,  $CON(R^6)_2$ ,  $CONHAr$ ,  $COR^6$ ,  $COAr$ ,  $S(O)_nA$ ,  $S(O)_nAr$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_m-COOR^6$ ,  $-[C(R^6)_2]_p-COOR^6$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_m-CON(R^6)_2$ ,  $-[C(R^6)_2]_p-CON(R^6)_2$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_m-CONHAr$ , oder  $-[C(R^6)_2]_p-CONHAr$ ,

30

$X$   $-[C(R^6)_2]_n-$ ,  $-CR^6=CR^6-$ ,  $-[C(R^6)_2]_n-O-$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_n-$ ,  $-COO-$ ,  $-OOC-$ ,  $-CONR^6-$  oder  $-NR^6CO-$ ,

35

$R^6$   $H$ ,  $A$  oder Benzyl,

- A Alkyl mit 1-20 C-Atomen, worin eine oder zwei CH<sub>2</sub>-Gruppen durch O- oder S-Atome oder durch -CR<sup>6</sup>=CR<sup>6</sup>-Gruppen und/oder 1-7 H-Atome durch F ersetzt sein können,
- 5 Ar unsubstituiertes oder ein-, zwei- oder dreifach durch A, Ar', OR<sup>6</sup>, OAr', N(R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, CN, Hal, NHCOA, NHCOAr', NHSO<sub>2</sub>A, NHSO<sub>2</sub>Ar', COOR<sup>6</sup>, CON(R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>, CONHAr', COR<sup>6</sup>, COAr', S(O)<sub>n</sub>A oder S(O)<sub>n</sub>Ar' substituiertes Phenyl oder
- 10 Naphthyl,
- Ar' unsubstituiertes oder ein-, zwei- oder dreifach durch A, OR<sup>6</sup>, N(R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, CN, Hal, NHCOA, COOR<sup>6</sup>, CON(R<sup>6</sup>)<sub>2</sub>, COR<sup>6</sup> oder S(O)<sub>n</sub>A substituiertes Phenyl oder Naphthyl,
- 15 Hal F, Cl, Br oder I,
- n 0, 1 oder 2,
- 20 m 1 oder 2,
- p 1 oder 2 bedeutet,
- 25 sowie deren Salze und Solvate als NHE-3-Inhibitoren.

Andere Inhibitoren des Natrium/Protonen-Austauschers Subtyp 3 sind z.B.

30 in der EP 0 825 178 beschrieben.

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, neue Verbindungen mit wertvollen Eigenschaften aufzufinden, insbesondere solche, die zur Herstellung von Arzneimitteln verwendet werden können.

35

In der DE 19819548 ist beschrieben, daß die Verbindungen der Formel I und ihre Salze Faktor Xa inhibierende Eigenschaften aufweisen und daher zur Bekämpfung und Verhütung von thromboembolischen Erkrankungen wie Thrombose, myocardialen Infarkt, Arteriosklerose, Entzündungen, Apoplexie, Angina pectoris, Restenose nach Angioplastie und Claudicatio intermittens eingesetzt werden können.

Überraschenderweise wurde gefunden, daß die Verbindungen der Formel I und ihre Salze bei guter Verträglichkeit den Natrium/Protonen-Austauscher Subtyp 3 inhibieren.  
Die Verbindungen der Formel I können als Arzneimittelwirkstoffe in der Human- und Veterinärmedizin eingesetzt werden.

Es ist bekannt, daß der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauscher eine Familie mit mindestens 6 unterschiedlichen Isoformen darstellt (NHE-1 bis NHE-6), die nun alle kloniert sind. Während der Subtyp NHE-1 ubiquitär im ganzen Körper in allen Geweben verteilt ist, werden die übrigen NHE-Subtypen selektiv in spezifischen Organen wie in der Niere oder in der Lumenwand und Kontraluminalwand des Dünndarms exprimiert. Diese Verteilung spiegelt die spezifischen Funktionen wider, denen die verschiedenen Isoformen dienen, nämlich einerseits die Regulation des intrazellulären pH-Werts und des Zellvolumens durch den Subtyp NHE-1 und andererseits die  $\text{Na}^+$ -Aufnahme und -Wiederaufnahme in Darm und Niere durch die Isoformen NHE-2 bzw. NHE-3. Die Isoform NHE-4 wurde hauptsächlich im Magen gefunden. Die Expression von NHE-5 beschränkt sich auf Gehirn und Neuronengewebe. NHE-6 stellt diejenige Isoform dar, die den Natriumprotonenaustauscher in den Mitochondrien bildet.

Die Isoform NHE-3 wird insbesondere in der Apicalmembran der proximalen Nierentubuli exprimiert; ein NHE-3-Hemmstoff übt daher u.a. eine Nierenschutzwirkung aus.

Die therapeutische Verwendung eines selektiven Hemmstoffs für NHE-3-Isoformen ist vielseitig. NHE-3-Hemmstoffe hemmen oder verringern Gewebeschäden und Zellnekrosen nach pathophysiologischen hypoxischen und ischämischen Ereignissen, die zu einer Aktivierung der NHE-Aktivität

führen, wie dies während Nierenischämie oder während der Entfernung, des Transports und der Reperfusion einer Niere bei der Nierenverpflanzung der Fall ist.

- 5 Die Verbindungen der Formel I wirken blutdrucksenkend und eignen sich als Arzneimittelwirkstoffe zur Behandlung der Hypertonie. Weiterhin eignen sie sich als Diuretika.
- Die Verbindungen der Formel I wirken alleine oder in Verbindung mit NHE-Inhibitoren anderer Subtypspezifität antiischämisch und können verwendet
- 10 werden bei Thrombosen, Atherosklerose, Gefäßspasmen, zum Schutz von Organen, z.B. Niere und Leber, vor und während Operationen, sowie bei chronischem oder akutem Nierenversagen.
- Weiterhin können sie verwendet werden zur Behandlung von Schlaganfall, des Hirnödems, Ischämien des Nervensystems, verschiedenen Formen
- 15 des Schocks sowie zur Verbesserung des Atemantriebs bei beispielsweise folgenden Zuständen: zentrale Schlafapnoen, plötzlicher Kindstod, postoperative Hypoxie und anderen Atemstörungen.
- Durch die Kombination mit einem Carboanhydrase-Hemmer kann die Atmungstätigkeit weiter verbessert werden.
- 20 Die Verbindungen der Formel I wirken inhibierend auf die Proliferationen von Zellen, beispielsweise der Fibroblasten-Zellproliferation und der Proliferation der glatten Gefäßmuskelzellen und können daher zur Behandlung von Krankheiten verwendet werden, bei denen die Zellproliferation eine primäre oder sekundäre Ursache darstellt.
- 25 Die Verbindungen der Formel I können verwendet werden gegen diabetische Spätkomplikationen, Krebserkrankungen, fibrotische Erkrankungen, endotheliale Disfunktion, Organhypertrophien und -hyperplasien, insbesondere bei Prostatahyperplasie bzw. Prostatahypertrophie.
- Ferner eignen sie sich als Diagnostika zur Bestimmung und Unterscheidung bestimmter Formen der Hypertonie, der Atherosklerose, des Diabetes und proliferativer Erkrankungen.
- 30 Da die Verbindungen der Formel I auch den Spiegel der Serumlipoproteine vorteilhaft beeinflussen, können sie zur Behandlung eines erhöhten Blutfettspiegels alleine oder in Kombination mit anderen Arzneimitteln eingesetzt werden.
- 35

5 Gegenstand der Erfindung ist die Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Thrombosen, ischämischen Zuständen des Herzens, des peripheren und zentralen Nervensystems und des Schlaganfalls, ischämischen Zuständen peripherer Organe und Gliedmaßen und zur Behandlung von Schockzuständen.

10 Gegenstand der Erfindung ist weiter die Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zum Einsatz bei chirurgischen Operationen und Organtransplantationen und zur Konservierung und Lagerung von Transplantaten für chirurgische Maßnahmen.

15 Gegenstand der Erfindung ist auch die Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten, bei denen die Zellproliferation eine primäre oder sekundäre Ursache darstellt, zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen des Fettstoffwechsels oder gestörtem Atemantrieb.

25 Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Herstellung eines Arzneimittels zur Behandlung von ischämischer Niere, ischämischen Darmerkrankungen oder zur Prophylaxe von akutem oder chronischen Nierenerkrankungen.

30 Methoden zur Identifizierung von Substanzen, die den Natrium/Protonen-Austauscher Substyp 3 inhibieren, sind z.B. in US 5,871,919 beschrieben.

Für alle Reste in den Verbindungen der Formel I, die mehrfach auftreten, wie z.B.  $R^6$ , gilt, daß deren Bedeutungen unabhängig voneinander sind.

35 Unter Hydraten und Solvaten versteht man z.B. die Hemi-, Mono- oder Dihydrate, unter Solvaten z.B. Alkoholadditionsverbindungen wie z.B. mit Methanol oder Ethanol.

In den vorstehenden Formeln bedeutet A Alkyl, ist linear oder verzweigt, und hat 1 bis 20, vorzugsweise 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 oder 12 C-Atome. A bedeutet vorzugsweise Methyl, weiterhin Ethyl, Propyl, Iso-  
5 propyl, Butyl, Isobutyl, sek.-Butyl oder tert.-Butyl, ferner auch Pentyl, 1-, 2- oder 3-Methylbutyl, 1,1-, 1,2- oder 2,2-Dimethylpropyl, 1-Ethylpropyl, Hexyl, 1-, 2-, 3- oder 4-Methylpentyl, 1,1-, 1,2-, 1,3-, 2,2-, 2,3- oder 3,3-Dimethylbutyl, 1- oder 2-Ethylbutyl, 1-Ethyl-1-methylpropyl, 1-Ethyl-2-methylpropyl, 1,1,2- oder 1,2,2-Trimethylpropyl, Heptyl, Octyl, Nonyl oder  
10 Decyl.  
A bedeutet weiterhin z.B. Trifluormethyl, Pentafluorethyl, Allyl oder Crotyl.

COR<sup>6</sup> ist Acyl und bedeutet vorzugsweise Formyl, Acetyl, Propionyl, ferner auch Butyryl, Pentanoyl oder Hexanoyl.  
15 COOR<sup>6</sup> bedeutet vorzugsweise Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, Propoxycarbonyl oder Butoxycarbonyl.

Hal bedeutet vorzugsweise F, Cl oder Br, aber auch I.

20 R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> und R<sup>5</sup> bedeuten, jeweils unabhängig voneinander, vorzugsweise H, Fluor, Chlor, Brom, Iod, Hydroxy, Methoxy, Ethoxy, Propoxy, Nitro, Amino, Methylamino, Dimethylamino, Ethylamino, Diethylamino, Acetamido, Sulfonamido, Methylsulfonamido, Phenylsulfonamido, Methylthio, Ethylthio, Methylsulfinyl, Ethylsulfinyl, Methylsulfonyl, Ethylsulfonyl, Phenylsulfinyl,  
25 Phenylsulfonyl, Cyan, Carboxy, Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, Carboxymethoxy, Methoxycarbonylmethoxy, Carboxymethyl, Methoxycarbonylmethyl, Aminocarbonylmethoxy, Aminocarbonylmethyl, N-Phenylaminocarbonylmethoxy, N-Phenylaminocarbonylmethyl, ferner auch Acyl oder Benzoyl.  
30 Insbesondere bedeuten R<sup>2</sup>, R<sup>5</sup> H.  
R<sup>3</sup> bedeutet insbesondere z.B. H, COOA oder -OCH<sub>2</sub>COOR<sup>6</sup>, wobei R<sup>6</sup> H oder Alkyl mit 1-4 C-Atomen bedeutet.

R<sup>6</sup> bedeutet H, A oder Benzyl, insbesondere jedoch H oder Alkyl mit 1-4 C-  
35 Atomen.  
X bedeutet vorzugsweise z.B. -CH<sub>2</sub>-, -CH=CH-, -CH<sub>2</sub>O-, -O-CH<sub>2</sub>-, -COO-,

-OOC-, -CONH- oder -NHCO-; ganz besonders bevorzugt ist -CH<sub>2</sub>O-, -O-CH<sub>2</sub>- oder -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-.

5 Ar bedeutet vorzugsweise unsubstituiertes Phenyl oder Naphthyl, weiterhin vorzugsweise z.B. durch A, Fluor, Chlor, Brom, Iod, Hydroxy, Methoxy, Ethoxy, Propoxy, Butoxy, Pentyloxy, Hexyloxy, Benzyloxy, Phenethyloxy, Methylthio, Ethylthio, Methylsulfinyl, Ethylsulfinyl, Methylsulfonyl, Ethylsulfonyl, Phenylsulfinyl, Phenylsulfonyl, Nitro, Amino, Methylamino, Ethylamino, Dimethylamino, Diethylamino, Formamido, Acetamido, Propionylamino, Butyrylamino, Methylsulfonamido, Ethylsulfonamido, Propylsulfonamido, Butylsulfonamido, Phenylsulfonamido, (4-Methylphenyl)-sulfonamido, Carboxymethoxy, Carboxyethoxy, Methoxycarbonylmethoxy, Methoxycarbonylethoxy, Hydroxymethoxy, Hydroxyethoxy, Methoxyethoxy, Carboxy, Methoxycarbonyl, Ethoxycarbonyl, Cyan, Phenylaminocarbonyl, Acyl oder Benzoyl mono-, di- oder trisubstituiertes Phenyl oder Naphthyl, ferner auch Biphenyl.

Ar bedeutet daher bevorzugt z.B. o-, m- oder p-Tolyl, o-, m- oder p-Ethylphenyl, o-, m- oder p-Propylphenyl, o-, m- oder p-Isopropylphenyl, o-, m- oder p-tert.-Butylphenyl, o-, m- oder p-Hydroxyphenyl, o-, m- oder p-Nitrophenyl, o-, m- oder p-Aminophenyl, o-, m- oder p-(N-Methylamino)-phenyl, o-, m- oder p-Acetamidophenyl, o-, m- oder p-Methoxyphenyl, o-, m- oder p-Ethoxyphenyl, o-, m- oder p-Carboxyphenyl, o-, m- oder p-Methoxycarbonylphenyl, o-, m- oder p-(N,N-Dimethylamino)-phenyl, o-, m- oder p-(N-Ethylamino)-phenyl, o-, m- oder p-(N,N-Diethylamino)-phenyl, o-, m- oder p-Acetylphenyl, o-, m- oder p-Formylphenyl, o-, m- oder p-Fluorphenyl, o-, m- oder p-Bromphenyl, o-, m- oder p-Chlorphenyl, o-, m- oder p-Methylsulfonylphenyl, o-, m- oder p-(Phenylsulfonamido)-phenyl, o-, m- oder p-(Methylsulfonamido)-phenyl, o-, m- oder p-Methylthiophenyl, weiter bevorzugt 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- oder 3,5-Difluorphenyl, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- oder 3,5-Dichlorphenyl, 2,3-, 2,4-, 2,5-, 2,6-, 3,4- oder 3,5-Dibromphenyl, 2,4- oder 2,5-Dinitrophenyl, 2,5- oder 3,4-Dimethoxyphenyl, 3-Nitro-4-chlorphenyl, 3-Amino-4-chlor-, 2-Amino-3-chlor-, 2-Amino-4-chlor-, 2-Amino-5-chlor- oder 2-Amino-6-chlorphenyl, 2-Nitro-4-N,N-dimethylamino- oder 3-Nitro-4-N,N-dimethylaminophenyl, 2,3-Diaminophenyl, 2,3,4-, 2,3,5-, 2,3,6-, 2,4,6- oder 3,4,5-Trichlorphenyl, 2,4,6-Trimethoxy-



phenyl, 2-Hydroxy-3,5-dichlorphenyl, p-Iodphenyl, 3,6-Dichlor-4-amino-  
phenyl, 4-Fluor-3-chlorphenyl, 2-Fluor-4-bromphenyl, 2,5-Difluor-4-brom-  
phenyl, 3-Brom-6-methoxyphenyl, 3-Chlor-6-methoxyphenyl, 3-Chlor-4-  
acetamidophenyl, 3-Fluor-4-methoxyphenyl, 3-Amino-6-methylphenyl, 3-  
5 Chlor-4-acetamidophenyl oder 2,5-Dimethyl-4-chlorphenyl.

Ar' bedeutet insbesondere z.B. Phenyl oder Naphthyl, ferner bevorzugt  
z.B. o-, m- oder p-Tolyl, o-, m- oder p-Ethylphenyl, o-, m- oder p-Propyl-  
phenyl, o-, m- oder p-Isopropylphenyl, o-, m- oder p-tert.-Butylphenyl, o-,  
m- oder p-Hydroxyphenyl, o-, m- oder p-Nitrophenyl, o-, m- oder p-Amino-  
phenyl, o-, m- oder p-(N-Methylamino)-phenyl, o-, m- oder p-Acetamido-  
phenyl, o-, m- oder p-Methoxyphenyl, o-, m- oder p-Ethoxyphenyl, o-, m-  
oder p-Carboxyphenyl, o-, m- oder p-Methoxycarbonylphenyl, o-, m- oder  
p-(N,N-Dimethylamino)-phenyl, o-, m- oder p-(N-Ethylamino)-phenyl, o-, m-  
oder p-(N,N-Diethylamino)-phenyl, o-, m- oder p-Acetylphenyl, o-, m- oder  
p-Formylphenyl, o-, m- oder p-Fluorphenyl, o-, m- oder p-Bromphenyl, o-,  
m- oder p- Chlorphenyl oder o-, m- oder p-Methylsulfonylphenyl.

Dementsprechend ist Gegenstand der Erfindung insbesondere die Ver-  
wendung derjenigen Verbindungen der Formel I, in denen mindestens ei-  
ner der genannten Reste eine der vorstehend angegebenen bevorzugten  
Bedeutungen hat. Einige bevorzugte Gruppen von Verbindungen können  
durch die folgenden Teilformeln Ia bis Ii ausgedrückt werden, die der For-  
mel I entsprechen und worin die nicht näher bezeichneten Reste die bei  
der Formel I angegebene Bedeutung haben, worin jedoch

in Ia	$R^1, R^4$	jeweils unabhängig voneinander -C(=NH)-NH <sub>2</sub> , das auch einfach durch OH substituiert sein kann oder -CO-N=C(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub>
30	bedeuten;	
in Ib	$R^2, R^5$	H
	bedeuten;	
in Ic	$R^1, R^4$	jeweils unabhängig voneinander -C(=NH)-NH <sub>2</sub> , das auch einfach durch OH substituiert sein kann oder -CO-N=C(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ,
35		

		$R^2, R^5$	H und
		$R^3$	H oder $\text{COOR}^6$ ,
		bedeuten;	
5	in Id	$R^1, R^4$	jeweils unabhängig voneinander $-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ , das auch einfach durch OH substituiert sein kann oder $-\text{CO}-\text{N}=\text{C}(\text{NH}_2)_2$ ,
		$R^2, R^5$	H und
		$R^3$	H, $\text{COOR}^6$ oder $-\text{O}-(\text{CH}_2)\text{COOR}^6$ ,
10		bedeuten;	
	in Ie	X	$-\text{CH}_2-\text{O}-$ oder $-\text{O}-\text{CH}_2-$
		bedeuten;	
	in If	$R^1, R^4$	jeweils unabhängig voneinander $-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ , das auch einfach durch OH substituiert sein kann oder $-\text{CO}-\text{N}=\text{C}(\text{NH}_2)_2$ ,
15			
		$R^2, R^5$	H,
		$R^3$	H oder $\text{COOR}^6$ und
		X	$-\text{CH}_2-\text{O}-$ oder $-\text{O}-\text{CH}_2-$
20		bedeuten;	
	in Ig	$R^1, R^4$	jeweils unabhängig voneinander $-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ , das auch einfach durch OH substituiert sein kann oder $-\text{CO}-\text{N}=\text{C}(\text{NH}_2)_2$ ,
25		$R^2, R^5$	H,
		$R^3$	H, $\text{COOR}^6$ oder $-\text{O}-(\text{CH}_2)\text{COOR}^6$ , und
		X	$-\text{CH}_2-\text{O}-$ , $-\text{O}-\text{CH}_2-$ oder $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$
		bedeuten;	
30	in Ih	$R^1, R^4$	jeweils unabhängig voneinander $-\text{C}(=\text{NH})-\text{NH}_2$ , das auch einfach durch OH substituiert sein kann oder $-\text{CO}-\text{N}=\text{C}(\text{NH}_2)_2$ ,
		$R^2, R^5$	H,
35		$R^3$	H, $\text{COOR}^6$ , $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{COOR}^6$ , $\text{CH}_2-\text{COOR}^6$ , $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CON}(\text{R}^6)_2$ , $\text{CH}_2-\text{CON}(\text{R}^6)_2$ , $-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CONHAr}$ oder $\text{CH}_2-\text{CONHAr}$ ,

	X	-CH <sub>2</sub> -O-, -O-CH <sub>2</sub> - oder -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -,
	R <sup>6</sup>	H oder A,
	A	Alkyl mit 1-4 C-Atomen,
	bedeuten;	
5	in li	R <sup>1</sup> , R <sup>4</sup> jeweils unabhängig voneinander -C(=NH)-NH <sub>2</sub> , das auch einfach durch OH substituiert sein kann oder -CO-N=C(NH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> ,
	R <sup>2</sup> , R <sup>5</sup>	H,
10	R <sup>3</sup>	H, COOR <sup>6</sup> , -O-CH <sub>2</sub> -COOR <sup>6</sup> , CH <sub>2</sub> -COOR <sup>6</sup> , -O-CH <sub>2</sub> -CON(R <sup>6</sup> ) <sub>2</sub> , oder CH <sub>2</sub> -CON(R <sup>6</sup> ) <sub>2</sub> ,
	X	-CH <sub>2</sub> -O-, -O-CH <sub>2</sub> - oder -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -,
	R <sup>6</sup>	H oder A,
15	A	Alkyl mit 1-4 C-Atomen,
	bedeuten.	

Die Verbindungen der Formel I und auch die Ausgangsstoffe zu ihrer Herstellung werden im übrigen nach an sich bekannten Methoden hergestellt, wie sie in der Literatur (z.B. in den Standardwerken wie Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart) beschrieben sind, und zwar unter Reaktionsbedingungen, die für die genannten Umsetzungen bekannt und geeignet sind. Dabei kann man auch von an sich bekannten, hier nicht näher erwähnten Varianten Gebrauch machen.

Die Ausgangsstoffe können, falls erwünscht, auch in situ gebildet werden, so daß man sie aus dem Reaktionsgemisch nicht isoliert, sondern sofort weiter zu den Verbindungen der Formel I umsetzt.

Verbindungen der Formel I können vorzugsweise erhalten werden, indem man Verbindungen der Formel I aus einem ihrer funktionellen Derivate durch Behandeln mit einem solvolysierenden oder hydrogenolysierenden Mittel in Freiheit setzt.

- Bevorzugte Ausgangsstoffe für die Solvolyse bzw. Hydrogenolyse sind solche, die sonst der Formel I entsprechen, aber anstelle einer oder mehrerer freier Amino- und/oder Hydroxygruppen entsprechende geschützte Amino- und/oder Hydroxygruppen enthalten, vorzugsweise solche, die an-
- 5      anstelle eines H-Atoms, das mit einem N-Atom verbunden ist, eine Aminoschutzgruppe tragen, insbesondere solche, die anstelle einer HN-Gruppe eine R'-N-Gruppe tragen, worin R' eine Aminoschutzgruppe bedeutet, und/oder solche, die anstelle des H-Atoms einer Hydroxygruppe eine Hydroxyschutzgruppe tragen, z.B. solche, die der Formel I entsprechen,
- 10      jedoch anstelle einer Gruppe -COOH eine Gruppe -COOR" tragen, worin R" eine Hydroxyschutzgruppe bedeutet.
- Bevorzugte Ausgangsstoffe sind auch die Oxadiazolderivate, die in die entsprechenden Amidinoverbindungen überführt werden können.
- 15      Die Einführung der Oxadiazolgruppe gelingt z.B. durch Umsetzung der Cyanverbindungen mit Hydroxylamin und Reaktion mit Phosgen, Dialkylcarbonat, Chlorameisensäureester, N,N'-Carbonyldiimidazol oder Acetanhydrid.
- 20      Es können auch mehrere - gleiche oder verschiedene - geschützte Amino- und/oder Hydroxygruppen im Molekül des Ausgangsstoffes vorhanden sein. Falls die vorhandenen Schutzgruppen voneinander verschieden sind, können sie in vielen Fällen selektiv abgespalten werden.
- 25      Der Ausdruck "Aminoschutzgruppe" ist allgemein bekannt und bezieht sich auf Gruppen, die geeignet sind, eine Aminogruppe vor chemischen Umsetzungen zu schützen (zu blockieren), die aber leicht entfernbar sind, nachdem die gewünschte chemische Reaktion an anderen Stellen des Moleküls durchgeführt worden ist. Typisch für solche Gruppen sind insbe-
- 30      sondere unsubstituierte oder substituierte Acyl-, Aryl-, Aralkoxymethyl- oder Aralkylgruppen. Da die Aminoschutzgruppen nach der gewünschten Reaktion (oder Reaktionsfolge) entfernt werden, ist ihre Art und Größe im übrigen nicht kritisch; bevorzugt werden jedoch solche mit 1-20, insbesondere 1-8 C-Atomen. Der Ausdruck "Acylgruppe" ist im Zusammenhang mit
- 35      dem vorliegenden Verfahren in weitestem Sinne aufzufassen. Er umschließt von aliphatischen, araliphatischen, aromatischen oder hetero-

cyclischen Carbonsäuren oder Sulfonsäuren abgeleitete Acylgruppen sowie insbesondere Alkoxy-carbonyl-, Aryloxy-carbonyl- und vor allem Aralkoxy-carbonylgruppen. Beispiele für derartige Acylgruppen sind Alkanoyl wie Acetyl, Propionyl, Butyryl; Aralkanoyl wie Phenylacetyl; Aroyl wie Benzoyl oder Toluyl; Aryloxyalkanoyl wie POA; Alkoxy-carbonyl wie Methoxy-carbonyl, Ethoxy-carbonyl, 2,2,2-Trichlorethoxy-carbonyl, BOC (tert.-Butyloxy-carbonyl), 2-Iodethoxy-carbonyl; Aralkyloxy-carbonyl wie CBZ ("Carbobenzoyl"), 4-Methoxybenzyloxy-carbonyl, FMOC; Arylsulfonyl wie Mtr. Bevorzugte Aminoschutzgruppen sind BOC und Mtr, ferner CBZ, Fmoc, Benzyl und Acetyl.

Der Ausdruck "Hydroxyschutzgruppe" ist ebenfalls allgemein bekannt und bezieht sich auf Gruppen, die geeignet sind, eine Hydroxygruppe vor chemischen Umsetzungen zu schützen, die aber leicht entfernbar sind, nachdem die gewünschte chemische Reaktion an anderen Stellen des Moleküls durchgeführt worden ist. Typisch für solche Gruppen sind die oben genannten unsubstituierten oder substituierten Aryl-, Aralkyl- oder Acylgruppen, ferner auch Alkylgruppen. Die Natur und Größe der Hydroxyschutzgruppen ist nicht kritisch, da sie nach der gewünschten chemischen Reaktion oder Reaktionsfolge wieder entfernt werden; bevorzugt sind Gruppen mit 1-20, insbesondere 1-10 C-Atomen. Beispiele für Hydroxyschutzgruppen sind u.a. Benzyl, p-Nitrobenzoyl, p-Toluolsulfonyl, tert.-Butyl und Acetyl, wobei Benzyl und tert.-Butyl besonders bevorzugt sind.

Das In-Freiheit-Setzen der Verbindungen der Formel I aus ihren funktionellen Derivaten gelingt - je nach der benutzten Schutzgruppe - z. B. mit starken Säuren, zweckmäßig mit TFA oder Perchlorsäure, aber auch mit anderen starken anorganischen Säuren wie Salzsäure oder Schwefelsäure, starken organischen Carbonsäuren wie Trichloressigsäure oder Sulfonsäuren wie Benzol- oder p-Toluolsulfonsäure. Die Anwesenheit eines zusätzlichen inerten Lösungsmittels ist möglich, aber nicht immer erforderlich. Als inerte Lösungsmittel eignen sich vorzugsweise organische, beispielsweise Carbonsäuren wie Essigsäure, Ether wie Tetrahydrofuran oder Dioxan, Amide wie DMF, halogenierte Kohlenwasserstoffe wie Dichlormethan, ferner auch Alkohole wie Methanol, Ethanol oder Isopropanol, sowie Wasser. Ferner kommen Gemische der vorgenannten Lösungsmittel in Frage. TFA

wird vorzugsweise im Überschuß ohne Zusatz eines weiteren Lösungsmittels verwendet, Perchlorsäure in Form eines Gemisches aus Essigsäure und 70 %iger Perchlorsäure im Verhältnis 9:1. Die Reaktionstemperaturen für die Spaltung liegen zweckmäßig zwischen etwa 0 und etwa 50°, vorzugsweise arbeitet man zwischen 15 und 30° (Raumtemperatur).

Die Gruppen BOC, OBut und Mtr können z. B. bevorzugt mit TFA in Dichlormethan oder mit etwa 3 bis 5n HCl in Dioxan bei 15-30° abgespalten werden, die FMOC-Gruppe mit einer etwa 5- bis 50 %igen Lösung von Dimethylamin, Diethylamin oder Piperidin in DMF bei 15-30°.

Hydrogenolytisch entfernbare Schutzgruppen (z. B. CBZ, Benzyl oder die Freisetzung der Amidinogruppe aus ihrem Oxadiazolderivat) können z. B. durch Behandeln mit Wasserstoff in Gegenwart eines Katalysators (z. B. eines Edelmetallkatalysators wie Palladium, zweckmäßig auf einem Träger wie Kohle oder wie feuchtes Raney-Nickel unter Zusatz von z.B. Essigsäure) abgespalten werden. Als Lösungsmittel eignen sich dabei die oben angegebenen, insbesondere z. B. Alkohole wie Methanol oder Ethanol oder Amide wie DMF. Die Hydrogenolyse wird in der Regel bei Temperaturen zwischen etwa 0 und 100° und Drucken zwischen etwa 1 und 200 bar, bevorzugt bei 20-30° und 1-10 bar durchgeführt. Eine Hydrogenolyse der CBZ-Gruppe gelingt z. B. gut an 5 bis 10 %igem Pd/C in Methanol oder mit Ammoniumformiat (anstelle von Wasserstoff) an Pd/C in Methanol/DMF bei 20-30°.

Verbindungen der Formel I, worin  $R^1$  und  $R^4$   $-C(=NH)-NH_2$  bedeuten, können vorzugsweise aus der entsprechenden Cyanverbindung erhalten werden.

Die Umwandlung einer Cyangruppe in eine Amidinogruppe erfolgt durch Umsetzung mit z.B. Hydroxylamin und anschließender Reduktion des N-Hydroxyamidins mit Wasserstoff in Anwesenheit eines Katalysators wie z.B. Pd/C oder Raney-Nickel.

Zur Herstellung eines Amidins der Formel I ( $R^1 = -C(=NH)-NH_2$ ) kann man an ein Nitril der Formel I ( $R^1 = CN$ ) auch Ammoniak anlagern. Die Anlagerung erfolgt bevorzugt mehrstufig, indem man in an sich bekannter Weise a) das Nitril mit  $H_2S$  in ein Thioamid umwandelt, das mit einem Alkylie-

5 runungsmittel, z.B.  $\text{CH}_3\text{I}$ , in den entsprechenden S-Alkyl-imidothioester übergeführt wird, welcher seinerseits mit  $\text{NH}_3$  zum Amidin reagiert, b) das Nitril mit einem Alkohol, z.B. Ethanol in Gegenwart von  $\text{HCl}$  in den entsprechenden Imidoester umwandelt und diesen mit Ammoniak behandelt, oder c) das Nitril mit Lithium-bis-(trimethylsilyl)-amid umsetzt und das Produkt anschließend hydrolysiert.

10 Herstellung der Cyanverbindungen erfolgt nach an sich bekannten Methoden.

Verbindungen der Formel I, worin  $\text{R}^1$  und  $\text{R}^4$   $-\text{CON}(=\text{NH})-\text{NH}_2$  bedeuten, können vorzugsweise aus den entsprechenden Alkoxycarbonylverbindungen erhalten werden, indem man mit Guanidin umsetzt.

15 Es ist ferner möglich, eine Verbindung der Formel I in eine andere Verbindung der Formel I umzuwandeln, indem man einen oder mehrere Rest(e),  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  und/oder  $\text{R}^5$  in einen oder mehrere Rest(e)  $\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$ ,  $\text{R}^3$ ,  $\text{R}^4$  und/oder  $\text{R}^5$  umwandelt, z.B. indem man eine Aminogruppe acyliert oder Nitrogruppen (beispielsweise durch Hydrierung an Raney-Nickel oder  
20 Pd-Kohle in einem inerten Lösungsmittel wie Methanol oder Ethanol) zu Aminogruppen reduziert.

Ester können z.B. mit Essigsäure oder mit  $\text{NaOH}$  oder  $\text{KOH}$  in Wasser, Wasser-THF oder Wasser-Dioxan bei Temperaturen zwischen 0 und  $100^\circ$   
25 verseift werden.

Ferner kann man freie Aminogruppen in üblicher Weise mit einem Säurechlorid oder -anhydrid acylieren oder mit einem unsubstituierten oder substituierten Alkylhalogenid alkylieren, zweckmäßig in einem inerten Lösungsmittel wie Dichlormethan oder THF und /oder in Gegenwart einer  
30 Base wie Triethylamin oder Pyridin bei Temperaturen zwischen  $-60$  und  $+30^\circ$ .

Die Umsetzung erfolgt in der Regel in einem inerten Lösungsmittel, in Gegenwart eines säurebindenden Mittels vorzugsweise eines Alkali- oder Erdalkalimetall-hydroxids, -carbonats oder -bicarbonats oder eines anderen  
35

Salzes einer schwachen Säure der Alkali- oder Erdalkalimetalle, vorzugsweise des Kaliums, Natriums, Calciums oder Cäsiums. Auch der Zusatz einer organischen Base wie Triethylamin, Dimethylanilin, Pyridin oder Chinolin oder eines Überschusses der Aminkomponente der Formel II  
5 bzw. des Alkylierungsderivates der Formel III kann günstig sein. Die Reaktionszeit liegt je nach den angewendeten Bedingungen zwischen einigen Minuten und 14 Tagen, die Reaktionstemperatur zwischen etwa 0° und 150°, normalerweise zwischen 20° und 130°.

10 Als inerte Lösungsmittel eignen sich z.B. Kohlenwasserstoffe wie Hexan, Petrolether, Benzol, Toluol oder Xylol; chlorierte Kohlenwasserstoffe wie Trichlorethylen, 1,2-Dichlorethan, Tetrachlorkohlenstoff, Chloroform oder Dichlormethan; Alkohole wie Methanol, Ethanol, Isopropanol, n-Propanol, n-Butanol oder tert.-Butanol; Ether wie Diethylether, Diisopropylether, Tetrahydrofuran (THF) oder Dioxan; Glykolether wie Ethylenglykolmono-  
15 methyl- oder -monoethylether (Methylglykol oder Ethylglykol), Ethylenglykoldimethylether (Diglyme); Ketone wie Aceton oder Butanon; Amide wie Acetamid, Dimethylacetamid, N-Methylpyrrolidon (NMP) oder Dimethylformamid (DMF); Nitrile wie Acetonitril; Sulfoxide wie Dimethylsulfoxid (DMSO); Schwefelkohlenstoff; Carbonsäuren wie Ameisensäure oder Essigsäure; Nitroverbindungen wie Nitromethan oder Nitrobenzol; Ester wie Ethylacetat oder Gemische der genannten Lösungsmittel.

25 Eine Base der Formel I kann mit einer Säure in das zugehörige Säureadditionssalz übergeführt werden, beispielsweise durch Umsetzung äquivalenter Mengen der Base und der Säure in einem inerten Lösungsmittel wie Ethanol und anschließendes Eindampfen. Für diese Umsetzung kommen insbesondere Säuren in Frage, die physiologisch unbedenkliche Salze liefern. So können anorganische Säuren verwendet werden, z.B.  
30 Schwefelsäure, Salpetersäure, Halogenwasserstoffsäuren wie Chlorwasserstoffsäure oder Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäuren wie Orthophosphorsäure, Sulfaminsäure, ferner organische Säuren, insbesondere aliphatische, alicyclische, araliphatische, aromatische oder heterocyclische ein- oder mehrbasige Carbon-, Sulfon- oder Schwefelsäuren, z.B. Ameisensäure, Essigsäure, Propionsäure, Pivalinsäure, Diethylessigsäure,  
35 Malonsäure, Bernsteinsäure, Pimelinsäure, Fumarsäure, Maleinsäure,



5 Milchsäure, Weinsäure, Äpfelsäure, Citronensäure, Gluconsäure, Ascorbinsäure, Nicotinsäure, Isonicotinsäure, Methan- oder Ethansulfonsäure, Ethandisulfonsäure, 2-Hydroxyethansulfonsäure, Benzolsulfonsäure, p-Toluolsulfonsäure, Naphthalin-mono- und -disulfonsäuren, Laurylschwefelsäure. Salze mit physiologisch nicht unbedenklichen Säuren, z.B. Pikrate, können zur Isolierung und /oder Aufreinigung der Verbindungen der Formel I verwendet werden.

10 Andererseits können Verbindungen der Formel I mit Basen (z.B. Natrium- oder Kaliumhydroxid oder -carbonat) in die entsprechenden Metall-, insbesondere Alkalimetall- oder Erdalkalimetall-, oder in die entsprechenden Ammoniumsalze umgewandelt werden.

Auch physiologisch unbedenkliche organische Basen, wie z.B. Ethanolamin können verwendet werden.

15 Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung der Verbindungen der Formel I als NHE-3-Inhibitoren und/oder ihrer physiologisch unbedenklichen Salze zur Herstellung pharmazeutischer Zubereitungen, insbesondere auf nicht-chemischem Wege. Hierbei können sie zusammen mit mindestens einem festen, flüssigen und/oder halbflüssigen Träger- oder Hilfsstoff und gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Wirkstoffen in eine geeignete Dosierungsform gebracht werden.

25 Gegenstand der Erfindung sind ferner pharmazeutische Zubereitungen, enthaltend mindestens einen NHE-3-Inhibitor der Formel I und/oder eines seiner physiologisch unbedenklichen Salze und Solvate.

30 Diese Zubereitungen können als Arzneimittel in der Human- oder Veterinärmedizin verwendet werden. Als Trägerstoffe kommen organische oder anorganische Substanzen in Frage, die sich für die enterale (z.B. orale), parenterale oder topische Applikation eignen und mit den neuen Verbindungen nicht reagieren, beispielsweise Wasser, pflanzliche Öle, Benzylalkohole, Alkylenglykole, Polyethylenglykole, Glycerintriacetat, Gelatine, Kohlehydrate wie Lactose oder Stärke, Magnesiumstearat, Talk, Vaseline.

35 Zur oralen Anwendung dienen insbesondere Tabletten, Pillen, Dragees, Kapseln, Pulver, Granulate, Sirupe, Säfte oder Tropfen, zur rektalen An-

wendung Suppositorien, zur parenteralen Anwendung Lösungen, vorzugsweise ölige oder wässrige Lösungen, ferner Suspensionen, Emulsionen oder Implantate, für die topische Anwendung Salben, Cremes oder Puder, oder transdermal in Patches.

5 Die neuen Verbindungen können auch lyophilisiert und die erhaltenen Lyophilisate z.B. zur Herstellung von Injektionspräparaten verwendet werden. Die angegebenen Zubereitungen können sterilisiert sein und/oder Hilfsstoffe wie Gleit-, Konservierungs-, Stabilisierungs- und/oder Netzmittel, Emulgatoren, Salze zur Beeinflussung des osmotischen Druckes, Puffer-

10 substanzien, Farb-, Geschmacks- und /oder mehrere weitere Wirkstoffe enthalten, z.B. ein oder mehrere Vitamine.

Als pharmazeutische Zubereitung für die Verabreichung in Form von Aerosolen oder Sprays sind geeignet z.B. Lösungen, Suspensionen oder Emulsionen des Wirkstoffs der Formel I in einem pharmazeutisch unbedenklichen Lösungsmittel.

15

Die Verbindungen der Formel I und ihre physiologisch unbedenklichen Salze und Solvate können zur Behandlung und/oder Prophylaxe der oben beschriebenen Krankheiten oder Krankheitszuständen verwendet werden.

20

Dabei werden die erfindungsgemäßen Substanzen in der Regel vorzugsweise in Dosierungen zwischen etwa 0,1 und 100 mg, insbesondere zwischen 1 und 10 mg pro Dosierungseinheit verabreicht. Die tägliche Dosierung liegt vorzugsweise zwischen etwa 0,001 und 10 mg/kg Körpergewicht.

25 Die spezielle Dosis für jeden Patienten hängt jedoch von den verschiedensten Faktoren ab, beispielsweise von der Wirksamkeit der eingesetzten speziellen Verbindung, vom Alter, Körpergewicht, allgemeinen Gesundheitszustand, Geschlecht, von der Kost, vom Verabreichungszeitpunkt und -weg, von der Ausscheidungsgeschwindigkeit, Arzneistoffkombination und

30 Schwere der jeweiligen Erkrankung, welcher die Therapie gilt. Die orale Applikation ist bevorzugt.

Vor- und nachstehend sind alle Temperaturen in °C angegeben. In den nachfolgenden Beispielen bedeutet "übliche Aufarbeitung": Man gibt, falls

35 erforderlich, Wasser hinzu, stellt, falls erforderlich, je nach Konstitution des Endprodukts auf pH-Werte zwischen 2 und 10 ein, extrahiert mit Ethyla-

cetat oder Dichlormethan, trennt ab, trocknet die organische Phase über Natriumsulfat, dampft ein und reinigt durch Chromatographie an Kieselgel und /oder durch Kristallisation.

Massenspektrometrie (MS): EI (Elektronenstoß-Ionisation)  $M^+$

5 FAB (Fast Atom Bombardment)  $(M+H)^+$

### Beispiel 1

10 Eine Lösung von 2,06 g 3-Brombenzonitril und 1,50 g 3-Tolylboronsäure in 50 ml Dimethoxyethan wird mit 247 mg Palladium(II)acetat, 335 mg Tri-o-tolyl-phosphin, 20 ml Wasser und 954 mg wasserfreiem Natriumcarbonat versetzt und unter Rühren 18 Stunden bei 100° C erhitzt. Man arbeitet wie üblich auf, chromatographiert den Rückstand an einer Kieselgelsäule mit Petrolether/Ethylacetat 9:1 und erhält 3'-Methylbiphenyl-3-carbonitril als farblosen Feststoff ("A"), EI 193.

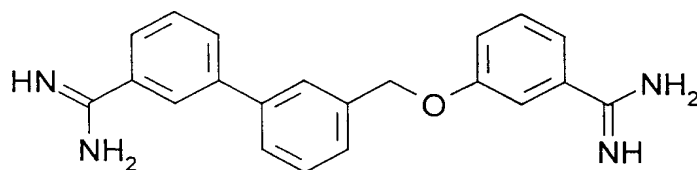
15 Eine Lösung von 1,17 g "A" in 10 ml Tetrachlorkohlenstoff wird mit 1,09 g N-Bromsuccinimid (NBS) und 60 mg Azobisisobutyronitril versetzt und 18 Stunden bei 70° C erhitzt. Man arbeitet wie üblich auf, chromatographiert den Rückstand an einer Kieselgelsäule mit Petrolether/Ethylacetat 9:1 und erhält 3'-Brommethylbiphenyl-3-carbonitril als farblosen Feststoff ("B").

20 Eine Lösung von 500 mg "B" und 238 mg 3-Hydroxybenzonitril in 10 ml Acetonitril wird mit 652 mg Cäsiumcarbonat versetzt und 40 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Nachüblicher Aufarbeitung wird der Rückstand an einer reversed-phase-Säule mit Acetonitril/Wasser 65:35 chromatographiert. Man erhält als farblosen Feststoff 3'-(3-Cyanphenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonitril ("C"), FAB 311.

25 Eine Lösung von 90 mg "C" und 125 mg Hydroxylammoniumchlorid in 10 ml Ethanol wird mit 1,2 g polymergebundenem Dimethylaminopyridin (DMAP) versetzt und 18 Stunden bei Raumtemperatur gerührt. Man filtriert ab, entfernt das Lösungsmittel und erhält N-Hydroxy-3'-[3-(N-hydroxy-carbamimidoyl)-phenoxy-methyl]-biphenyl-3-carboxamidin ("D") als farblosen Feststoff, FAB 377.

30 Eine Lösung von 76 mg "D" in 10 ml Methanol wird mit 100 mg wasserfeuchtem Raney-Nickel und 30 mg Essigsäure versetzt und 18 Stunden bei Raumtemperatur und Normaldruck hydriert. Man filtriert ab, entfernt das Lösungsmittel und erhält 3'-(3-Carbamidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carboxamidin, Acetat, EI 327 ( $M^+ - NH_3$ ), 310 ( $M^+ - 2 NH_3$ )

5



Analog erhält man die Verbindungen

10

3'-(3-Carbamimidoyl-phenoxy)methyl-biphenyl-4-carboxamidin, Diacetat, FAB 345;

3'-(4-Carbamimidoyl-phenoxy)methyl-biphenyl-4-carboxamidin, Diacetat, FAB 345;

3'-(4-Carbamimidoyl-phenoxy)methyl-biphenyl-3-carboxamidin, Diacetat, FAB 345;

15

4'-(4-Carbamimidoyl-phenoxy)methyl-biphenyl-4-carboxamidin,

4'-(4-Carbamimidoyl-phenoxy)methyl-biphenyl-3-carboxamidin,

4'-(3-Carbamimidoyl-phenoxy)methyl-biphenyl-3-carboxamidin und

4'-(3-Carbamimidoyl-phenoxy)methyl-biphenyl-4-carboxamidin.

## Beispiel 2

20

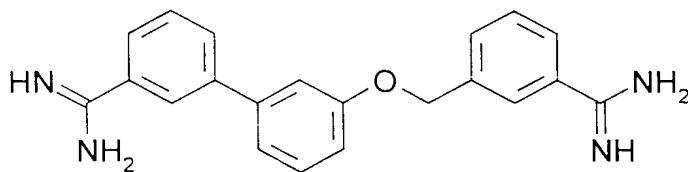
Analog Beispiel 1 erhält man durch Umsetzung von 3-Brombenzonitril mit 3-Methoxyphenylboronsäure die Verbindung 3'-Methoxybiphenyl-3-carbonitril.

25

Durch anschließende Etherspaltung mit Aluminiumtriiodid in Acetonitril und Umsetzung mit 3-Brommethyl-benzonitril erhält man 3'-(3-Cyanbenzyloxy)-biphenyl-3-carbonitril.

Durch Umsetzung mit Hydroxylamin und Reduktion mit Wasserstoff unter Ra-Ni-Katalyse erhält man 3'-(3-Carbamimidoyl-benzyloxy)-biphenyl-3-carboxamidin

30



35

Analog erhält man

4'-(4-Carbamimidoyl-benzyloxy)-biphenyl-4-carboxamidin, Diacetat, FAB 345;

4'-(3-Carbamimidoyl-benzyloxy)-biphenyl-4-carboxamidin, Diacetat, FAB 345.

5

### Beispiel 3

Analog Beispiel 1 erhält man durch Umsetzung von 3-Cyanphenylboronsäure mit 3-Brom-5-methyl-benzoesäuremethylester die Verbindung 3'-Cyan-5-methyl-biphenyl-3-carbonsäuremethylester. Durch Bromierung mit NBS und Umsetzung mit 3-Hydroxybenzonitril erhält man 3'-Cyan-5-(3-Cyan-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonsäuremethylester.

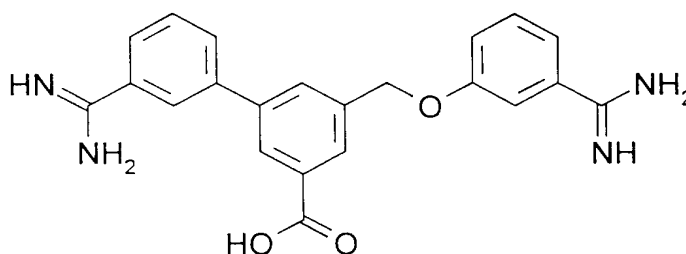
10

15

Reaktion mit Hydroxylamin und Reduktion mit  $H_2/Ra-Ni$  ergibt die Verbindung 3'-Carbamimidoyl-5-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonsäuremethylester.

Durch Verseifung des Esters mit wässriger NaOH erhält man daraus 3'-Carbamimidoyl-5-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonsäure.

20



25

Durch Chromatographie an reversed-phase-Säule mit Acetonitril/Wasser/TFA-Gemisch erhält man 3'-Carbamimidoyl-5-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonsäure, Bistrifluoracetat.

30

Analog erhält man die Verbindungen

4'-Carbamimidoyl-4-(4-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonsäuremethylester, FAB 403;

35

4'-Carbamimidoyl-4-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-2-carbonsäuremethylester, FAB 403;

3'-Carbamimidoyl-4-(4-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-2-carbonsäuremethylester, FAB 403;

5 3'-Carbamimidoyl-4-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-2-carbonsäuremethylester, FAB 403;

4'-Carbamimidoyl-5-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-4-carbonsäuremethylester, FAB 403;

10

3'-Carbamimidoyl-5-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-4-carbonsäuremethylester, FAB 403.

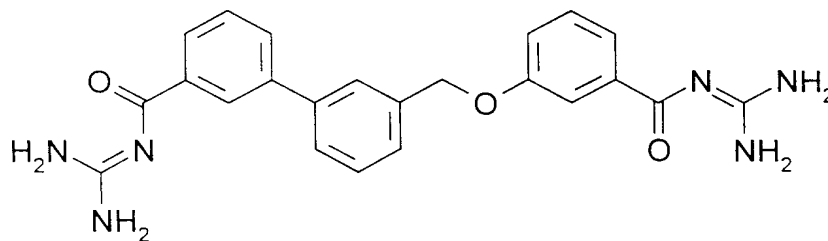
#### Beispiel 4

15

Analog Beispiel 1 erhält man durch Umsetzung von 3-Brombenzoesäuremethylester mit 3-Tolylboronsäure 3'-Methylbiphenyl-3-carbonsäuremethylester. Durch Bromierung mit NBS und Umsetzung mit 3-Hydroxybenzoesäuremethylester erhält man daraus 3'-(3-Methoxycarbonyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonsäuremethylester. Durch Umsetzung mit Guanidinhydrochlorid in methanolischer Natriummethanolatlösung erhält man daraus N-[3'-(3-Guanidinocarbonyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carbonyl]-guanidin

20

25



30

Analog erhält man die Verbindung N-[4'-(4-Guanidinocarbonyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-4-carbonyl]-guanidin.

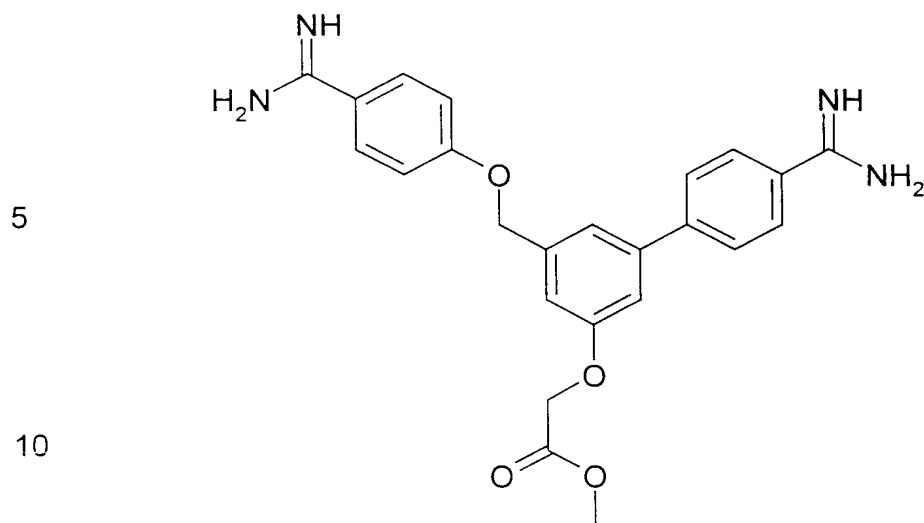
35

Beispiel 5

5 Eine Lösung von 7,0 g 3-Brom-5-methylphenol und 5,97 g Bromessigsäuremethylester sowie 13 g Cäsiumcarbonat in 100 ml Acetonitril wird bei Raumtemperatur über Nacht gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung erhält man 9,70 g (3-Brom-5-methylphenoxy)-essigsäuremethylester ("AB"). Eine Suspension von 2,0 g "AB", 100 mg Tetrakis(triphenylphosphin)-Palladium und 0,85 g Natriumcarbonat in 50 ml Toluol wird zum Sieden erhitzt. Dann wird eine Lösung von 2,94 g 3-Cyanphenylboronsäure in 30  
10 ml Methanol zugetropft und 14 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Man arbeitet wie üblich auf und erhält 2,17 g (3'-Cyan-5-methyl-biphenyl-3-yloxy)-essigsäuremethylester ("AC"). Eine Lösung von 1,2 g "AC" und 0,765 g NBS in 50 ml Tetrachlorkohlenstoff wird bei Raumtemperatur mit UV-Licht bestrahlt. Nach üblicher Aufar-  
15 beitung erhält man 1,54 g (3'-Cyan-5-brommethyl-biphenyl-3-yloxy)-essigsäuremethylester ("AD"). Eine Lösung von 185 mg "AD", 63,1 mg 4-Hydroxybenzonitril und 172,7 mg Cäsiumcarbonat in 10 ml Acetonitril wird bei Raumtemperatur 4 Tage gerührt. Nach üblicher Aufarbeitung erhält man [3'-Cyan-5-(4-  
20 cyanphenoxymethyl)-biphenyl-3-yloxy]-essigsäuremethylester ("AE"). Eine Lösung von 60 mg "AE", 69,5 mg Hydroxylammoniumchlorid und 101 mg Triethylamin in 10 ml Methanol wird 14 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach Entfernen des Lösungsmittels wird in Wasser aufgenommen. Man trennt ab und erhält 70 mg [3'-N-Hydroxyamidino-5-(4-N-hydroxyamidino-  
25 phenoxymethyl)-biphenyl-3-yloxy]-essigsäuremethylester ("AF"). Durch Reduktion mit H<sub>2</sub>/Raney-Nickel erhält man daraus [3'-Amidino-5-(4-amidinophenoxymethyl)-biphenyl-3-yloxy]-essigsäuremethylester, FAB 433

30

35



Analog erhält man die Verbindungen

15

[4'-Amidino-5-(4-amidinophenoxy)methyl]-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäuremethylester, FAB 433

20

[3'-Amidino-5-(3-amidinophenoxy)methyl]-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäuremethylester, FAB 433

[4'-Amidino-5-(3-amidinophenoxy)methyl]-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäuremethylester, FAB 433.

25

Ersetzt man in der ersten Stufe Bromessigsäuremethylester durch Brom-  
essigsäure-tert.-butylester so können die in der letzten Stufe erhaltenen  
tert.-Butylester mit Trifluoressigsäure gespalten werden und man erhält die  
entsprechenden Carbonsäuren

30

[3'-Amidino-5-(4-amidinophenoxy)methyl]-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäure, Bistrifluoracetat, FAB 419;

[4'-Amidino-5-(4-amidinophenoxy)methyl]-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäure;

35

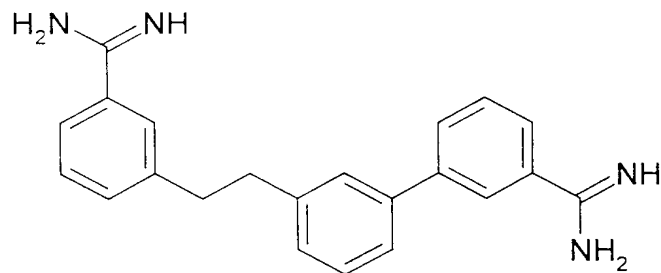


[3'-Amidino-5-(3-amidinophenoxymethyl)-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäure;

[4'-Amidino-5-(3-amidinophenoxymethyl)-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäure.

#### Beispiel 6

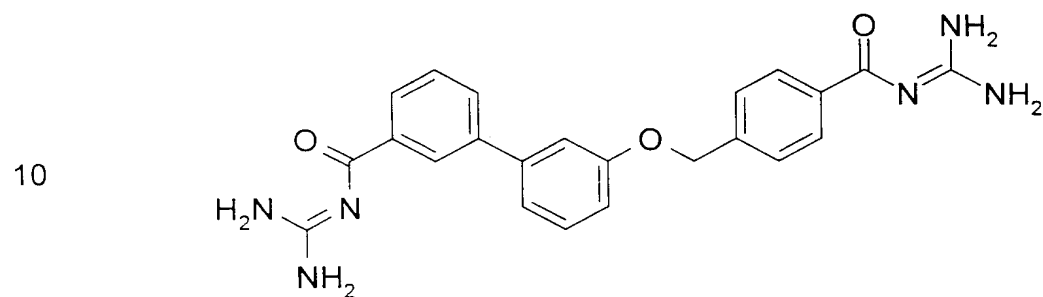
Eine Lösung von 5,0 g 3'-Brommethyl-biphenyl-3-carbonitril und 5 ml Tri-  
ethylphosphit werden zusammengegeben und langsam auf 150° erhitzt.  
Man rührt 6 h bei 150° nach und erhält nach üblicher Aufarbeitung 6,05 g  
(3'-Cyan-biphenyl-3-ylmethyl)-phosphonsäurediethylester ("BA").  
Zu einer Lösung von 1,0 g "BA" und 3-Cyanbenzaldehyd in 20 ml Ethyl-  
englycoldimethylether gibt man unter Eiskühlung und Stickstoff 150 mg  
Natriumhydrid. Man rührt 4 Stunden nach, arbeitet wie üblich auf und erhält  
0,93 g 3'-[2-(3-Cyanphenyl)-vinyl]-biphenyl-3-carbonitril ("BB").  
Nach Hydrierung von 360 mg "BB" mit Pd-C-5 % in Methanol erhält man  
360 mg 3'-[2-(3-Cyanphenyl)-ethyl]-biphenyl-3-carbonitril ("BC"). Nach  
Umsetzung mit Hydroxylammoniumchlorid und Hydrierung mit Raney-  
Nickel erhält man analog Beispiel 1 die Verbindung 3'-[2-(3-Amidino-  
phenyl)-ethyl]-biphenyl-3-carboxamidin, FAB 343



Analog erhält man die Verbindung 3'-[2-(4-Amidinophenyl)-ethyl]-biphenyl-  
3-carboxamidin, FAB 343.

Beispiel 7

5 Die Verbindung N-[3'-(4-Guanidinocarbonyl-benzyloxy)-biphenyl-3-carbonyl]-guanidin, Dihydrochlorid, FAB 431



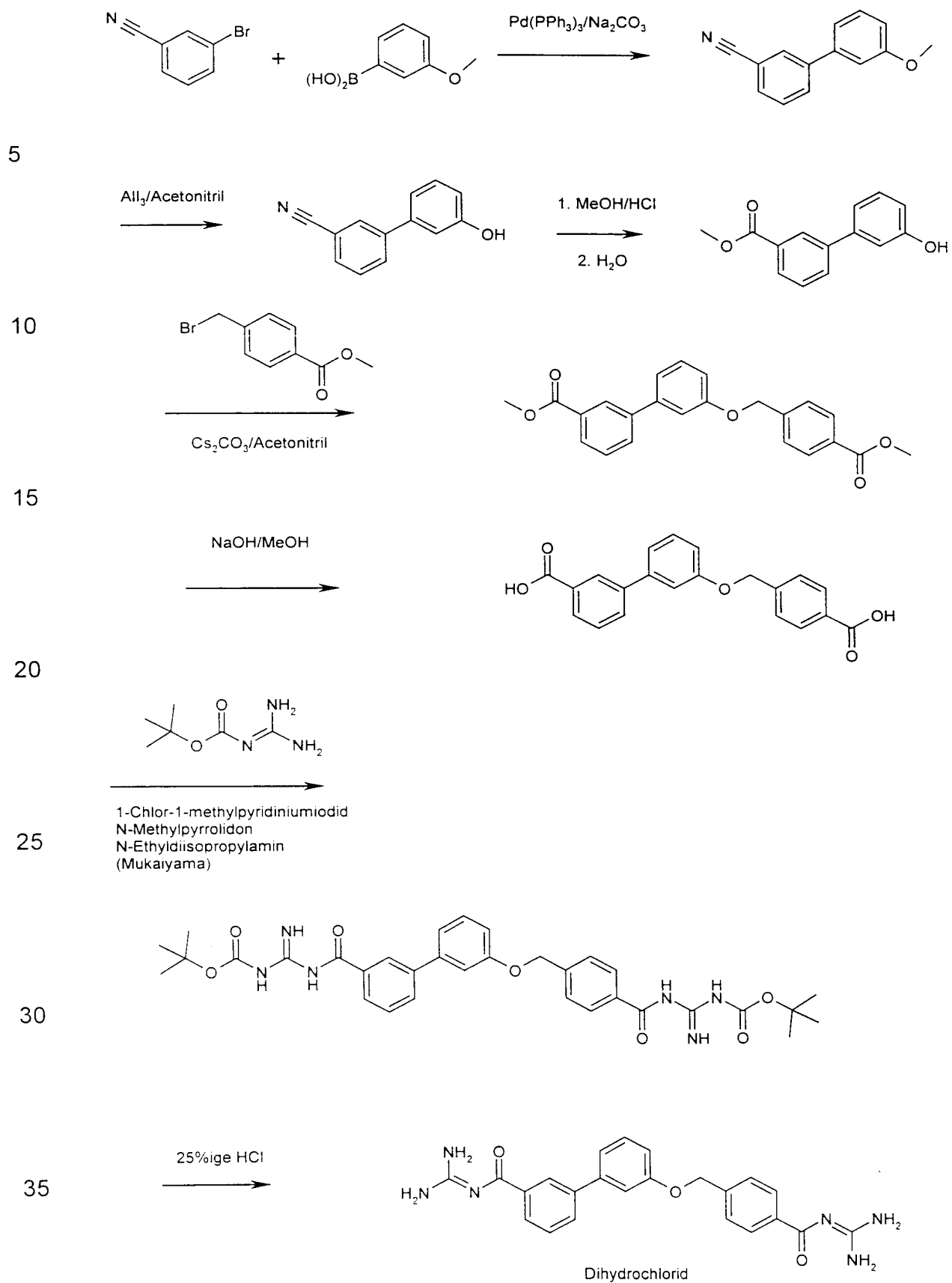
15 erhält man z.B. gemäß nachstehendem Reaktionsschema:

20

25

30

35



Analog erhält man nachstehende Verbindungen

5 N-[3'-(3-Guanidinocarbonyl-benzyloxy)-biphenyl-3-carbonyl]-guanidin,  
Dihydrochlorid, FAB 431;

N-[3'-(4-Guanidinocarbonyl-benzyloxy)-biphenyl-4-carbonyl]-guanidin,  
Dihydrochlorid, FAB 431;

10 N-[3'-(3-Guanidinocarbonyl-benzyloxy)-biphenyl-4-carbonyl]-guanidin,  
Dihydrochlorid, FAB 431.

### **Pharmakologische Tests**

15

Im folgenden ist die Methodik dargestellt, die zur Charakterisierung der Verbindungen der Formel I als NHE-3-Inhibitoren verwendet wurde.

20

Die Verbindungen der Formel I wurden in bezug auf ihre Selektivität gegenüber den Isoformen NHE-1 bis NHE-3 charakterisiert. Die drei Isoformen wurden in Maus-Fibroblastenzelllinien stabil exprimiert. Die Hemmwirkung der Verbindungen wurde durch Bestimmung der EIPA-empfindlichen  $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme in die Zellen nach intrazellulärer Acidose beurteilt.

25

Zur Charakterisierung der  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschhemmstoffe in bezug auf ihre Isoformselektivität untersuchten wir die Verbindungen auf ihre Hemmung der NHE-Isoformen NHE-1, -2 und -3, die in einer Maus-Fibroblastenzelllinie stabil exprimiert wurden (siehe Verfahrensteil), dadurch, daß die EIPA-empfindliche  $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme in die Zellen nach intrazellulärer Acidose bestimmt wurde.

30

Material und Methoden

### **LAP1-Zelllinien, die die unterschiedlichen NHE-Isoformen exprimieren**

35

Die LAP1-Zelllinien, die die Isoformen NHE-1, -2 und -3 exprimieren (eine Maus-Fibroblastenzelllinie), wurden von Prof. J. Pouyssegur (Nice, Frank-

reich) erhalten. Die Transfektionen wurden nach dem Verfahren von Franchi et al. (1986) durchgeführt. Die Zellen wurden in Dulbeccos modifiziertem Eagle-Medium (DMEM) mit 10% inaktiviertem fötalem Kälberserum (FKS) kultiviert. Zur Selektion der NHE-exprimierenden Zellen wurde das  
5 sogenannte "Säureabtötungsverfahren" von Sardet et al. (1989) verwendet. Die Zellen wurden zuerst 30 Minuten in einem  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -haltigen bicarbonat- und natriumfreien Puffer durch Waschen mit einem bicarbonat-,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ - und natriumfreien Puffer entfernt und es wurde mit einem bicarbonatfreien  $\text{NaCl}$ -haltigen Puffer inkubiert. Nur diejenigen zellen, die NHE  
10 funktionell exprimieren, konnten in der intrazellulären Ansäuerung, der sie ausgesetzt wurden, überleben.

#### Charakterisierung von NHE-Hemmstoffen in bezug auf ihre Isoformselektivität

15

Mit den obengenannten Maus-Fibroblastenzelllinien, die die Isoformen NHE-1, NHE-2 und NHE-3 exprimieren, wurden Verbindungen nach der von Counillon et al. (1993) und Scholz et al. (1995) beschriebenen Vorgehensweise auf Selektivität gegenüber den Isoformen geprüft. Die Zellen  
20 wurden intrazellulär nach dem  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Prepulse-Verfahren und anschließend durch Inkubation in einem bicarbonatfreien  $^{22}\text{Na}^+$ -haltigen Puffer angesäuert. Aufgrund der intrazellulären Ansäuerung wurde NHE aktiviert und Natrium wurde in die zellen aufgenommen. Die Auswirkung der Prüfverbindung wurde als Hemmung der EIPA (Ethyl-isopropylamilorid)-empfindlichen  $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme ausgedrückt.  
25

25

Die Zellen, die NHE-1, NHE-2 und NHE-3 exprimierten, wurden in einer Dichte von  $5-7,5 \times 10^4$  Zellen/Näpfchen in Mikrotiterplatten mit 24 Näpfchen überimpft und 24 bis 48 Stunden bis zur Konfluenz gezüchtet. Das Medium wurde abgesaugt und die Zellen wurden 60 Minuten bei  $37^\circ \text{C}$  im  $\text{NH}_4\text{Cl}$ -Puffer (50 mM  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , 70 mM Cholinchlorid, 15 mM MOPS, pH 7,0)  
30 inkubiert. Anschließend wurde der Puffer entfernt und die Zellen wurden rasch zweimal mit dem Cholinchlorid-Waschpuffer (120 mM Cholinchlorid, 15 mM PIPES/Tris, 0,1 mM Ouabain, 1 mM  $\text{MgCl}_2$ , 2 mM  $\text{CaCl}_2$ , pH 7,4) überschichtet; in diesem Puffer wurden die Zellen 6 Minuten inkubiert.

30

35

Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde der Inkubationspuffer abgesaugt. Zwecks Entfernung extrazellulärer Radioaktivität wurden die Zellen viermal

rasch mit eiskalter phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS) gewaschen. Danach wurden die Zellen durch Zusatz von 0,3 ml 0,1 N NaOH pro Näpfchen solubilisiert. Die zellfragmenthaltigen Lösungen wurden in Szintillationsröhrchen überführt. Jedes Näpfchen wurde noch zweimal mit 0,3 ml 0,1 N NaOH gewaschen und die Waschlösungen wurden ebenfalls in die entsprechenden Szintillationsröhrchen gegeben. Die das Zellysate enthaltenden Röhrchen wurden mit Szintillationscocktail versetzt und die in die Zellen aufgenommene Radioaktivität wurde durch Bestimmung der  $\beta$ -Strahlung bestimmt.

#### Hemmung der $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme in Kaninchen-Erythrozyten

Die  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschaktivität wurde auch durch Beobachtung der Aufnahme von  $^{22}\text{Na}^+$ -Ionen in sauergestellte Kaninchen-Erythrozyten bestimmt. Kaninchen-Erythrozyten haben bei Untersuchungen zur  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -Austauschaktivität breite Anwendung gefunden (Escobales & Fugueroa, 1991; Morgan & Canessa, 1990). Der EIPA-empfindliche Anteil der  $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme in sauergestellte Erythrozyten wurde als  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -abhängige  $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme angesehen.

#### Zellpräparation

Die Präparation der roten Blutkörperchen sowie die interne Ansäuerung der roten Blutkörperchen wurden in starker Anlehnung an die Verfahren von Morgan und Canessa (1990) durchgeführt.

Das Blut wurde von Kaninchen erhalten (z.B. New Zealand White). Es wurde in 50-ml-Falcon-Zentrifugenröhrchen aufgefangen, die 5 ml Natriumheparinlösung (250 U/ml) enthielten. Das Blut und die Heparinlösung wurden gut vermischt. Die roten Blutkörperchen wurden durch Zentrifugation bei 2000 x g bei 4° C gewonnen; Plasma und Leukozytenmanschette wurden entfernt. Die verbleibende Lösung wurde durch 200- $\mu\text{m}$ -Gaze filtriert. Das Filtrat wurde mit Waschpuffer wieder auf das ursprüngliche Volumen suspendiert (140 mM KCl, 0,15 mM  $\text{MgCl}_2$ , 10 mM TRIS/MOPS, pH 7,4). Die roten Blutkörperchen wurden wiederum durch Zentrifugation gewonnen (2000 x g, 4° C). Der Waschvorgang wurde zweimal wiederholt.

### Intrazelluläre Ansäuerung

Zur intrazellulären Ansäuerung wurden 5 ml der abgesetzten gesammelten roten Blutkörperchen wiederum mit 45 ml Ansäuerungspuffer suspendiert (170 mM KCl, 0,15 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1 mM Ouabain, 10 mM Glucose, 10 mM Saccharose, 20 mM Tris/Mes, pH 6,2). Die Suspension der roten Blutkörperchen wurde 10 Minuten bei 37° C inkubiert (unter gelegentlichem Mischen). Um den internen pH zu fixieren, versetzt man mit bis zu 200 µM und 1mM DIDS bzw. DIAMOX (acetazolamid). Man inkubierte noch 30 Minuten bei 37° C.

Die roten Blutkörperchen wurden anschließend durch Zentrifugation gewonnen (4 Minuten bei 2000 x g, 4° C); sie wurden wiederum mit eiskalter ungepufferter Waschlösung (170 mM KCl, 40 mM Saccharose, 0,15 mM MgCl<sub>2</sub>) suspendiert und damit viermal gewaschen.

### Inkubation sowie Messung der <sup>22</sup>Na<sup>+</sup>-Aufnahme

Die Inkubation wurde in Macrowell-Tube-Streifen in einem Format von 8 x 12 durchgeführt. Mit der Inkubation wurde dadurch begonnen, daß man 200 µl Inkubationspuffer (160 mM KCl, <sup>22</sup>NaCl (37 MBq/Näpfchen), 10 mM NaCl, 0,15 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1 mM Ouabain, 10 mM Glucose, 40 mM Saccharose, 10 mM Tris/MOPS, pH 8,0, 0,5 mM Diamox, 1% DMSO) mit 20 µl der (vorgewärmten) angesäuerten Lösung der roten Blutkörperchen versetzte. Die Prüfsubstanzen wurden zuerst mit 100% DMSO gelöst und die Lösung wurde anschließend mit Inkubationspuffer auf die entsprechenden Konzentrationen verdünnt. Man inkubierte 5 Minuten bei 37° C. (In Vorversuchen wurde gezeigt, daß unter diesen Inkubationsbedingungen die <sup>22</sup>Na-Aufnahmerate während der 5-minütigen Inkubationsdauer linear war).

Die Inkubation wurde durch Zugabe von 800 µl eiskalter Stopplösung (112 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,1 mM Ouabain) gestoppt. Die Röhrchen wurden kurzfristig auf Eis aufbewahrt. Anschließend wurden die Röhrchen mit Parafilm abgedeckt und die roten Blutkörperchen wurden durch 7-minütige Zentrifugation bei 2000 x g und 4° C gewonnen. Der Überstand wurde mit einem selbstgemachten Absaugegerät abgesaugt, mit dem man 4 nebeneinanderliegende Röhrchen gleichzeitig absaugen konnte; Abstandhalterringe an den weiteren Enden der Spitzen verhinderten, daß die Spitzen zu tief in

die Röhrchen eintauchten und man das Pellet der roten Blutkörperchen absaugte. Alle  $^{22}\text{Na}$ -haltigen Überstände sowie Waschlösungen wurden aufbewahrt und als radioaktiver Abfall entsorgt.

5 Die roten Blutkörperchen wurden dreimal mit 900  $\mu\text{l}$  eiskalter Stopplösung gewaschen, und zwar dadurch, daß man den oben beschriebenen Suspendierungs-/Zentrifugationsschritt wiederholte. Nach dem letzten Waschen wurde das Pellet der roten Blutkörperchen mit 200  $\mu\text{l}$  Wasser versetzt. Anschließend wurden die Röhrchen 2 x 30 Minuten mit Ultraschall  
10 behandelt. Anschließend wurden die Macrowell-Tube-Streifen auseinandergenommen und jedes Röhrchen wurde kopfüber in ein eigenes Szintillationsröhrchen gegeben; durch leichtes Schütteln entleerte sich die hämolysierte Lösung der roten Blutkörperchen in das Szintillationsgläschen. Jedes Gläschen wurde mit 3 ml der Szintillationsflüssigkeit Aquasafe 300 PS versetzt, und die Gläschen wurden mit Verschlüssen versehen und gut  
15 gemischt.  
Die in die roten Blutkörperchen aufgenommene Radioaktivität wurde in einem Szintillationszähler durch Verfolgen des  $\beta$ -Zerfalls bestimmt.  
Pro Substanzkonzentration wurde die bestimmung in dreifacher Wiederholung durchgeführt. Von jedem Wert wurde das Mittel der Zählungsbestimmung in gegenwart von 10  $\mu\text{M}$  EIPA subtrahiert, um die nicht- $\text{Na}^+/\text{H}^+$ -  
20 abhängige  $^{22}\text{Na}^+$ -Aufnahme in die Erythrozyten einzubeziehen. Das Mittel der verbleibenden Zählungen in Abwesenheit einer Substanz wurde als 100-%-Kontrolle verwendet; die Mittelwerte in Gegenwart der Prüfverbindungen wurden als Prozentsatz dieses Kontrollwerts ausgedrückt. Die prozentmäßigen Aufnahmedaten wurden semilogarithmisch aufgetragen;  
25 IC50-Werte wurden dadurch erzielt, daß man unter Verwendung der Gleichung  $f(x) = 100/(1 + (\text{IC}50/x)^{**n})$  die Werte an eine nichtlineare Kurve anpasste.

30 Literatur:

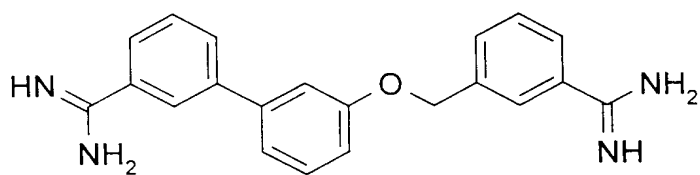
- Counillon et al. (1993) Mol. Pharmacol. 44: 1041-1045  
Escobales und Figueroa (1991) J. Membrane Biol. 120, 41-49  
Franchi et al. (1986) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 9388-9392  
Morgan und Canessa (1990) J. Membrane Biol. 118, 193-214  
35 Sardet et al. (1989) Cell 56: 271-280  
Scholz et al. (1995) Cardiovasc. Res. 29: 260-268



Testergebnisse

1.

5



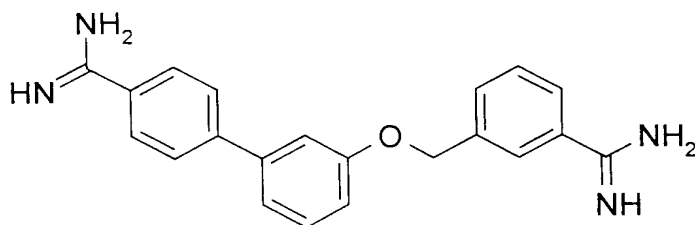
Code EMD 221960

10

IC<sub>50</sub> (NHE-3) = 1-2  $\mu$ M

2.

15



Diacetat;

20

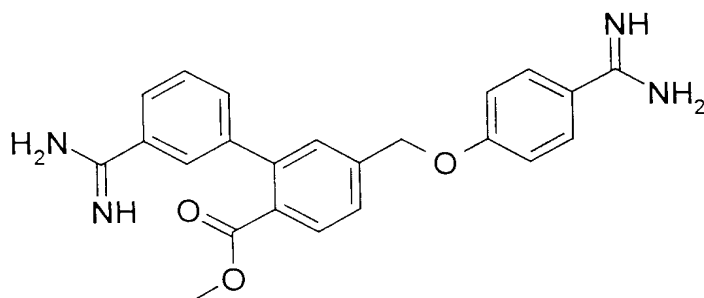
Code EMD 221963

IC<sub>50</sub> (NHE-3) = 1  $\mu$ M

25

3.

30



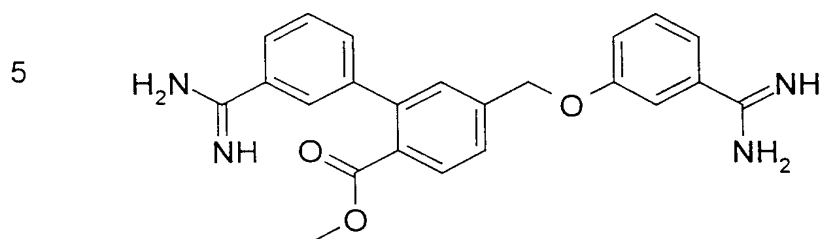
Diacetat;

35

Code EMD 246326

IC<sub>50</sub> (NHE-3) = 3  $\mu$ M

4.



Diacetat;

10

Code EMD 246327  
IC<sub>50</sub> (NHE-3) = 3-4  $\mu$ M.

15

20

25

30

35

Die nachfolgenden Beispiele betreffen pharmazeutische Zubereitungen:

**Beispiel A: Injektionsgläser**

- 5 Eine Lösung von 100 g eines NHE-3-Inhibitors der Formel I und 5 g Dinatriumhydrogenphosphat wird in 3 l zweifach destilliertem Wasser mit 2 n Salzsäure auf pH 6,5 eingestellt, steril filtriert, in Injektionsgläser abgefüllt, unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jedes Injektionsglas enthält 5 mg Wirkstoff.

10

**Beispiel B: Suppositorien**

- Man schmilzt ein Gemisch von 20 g eines NHE-3-Inhibitors der Formel I mit 100 g Sojalecithin und 1400 g Kakaobutter, gießt in Formen und läßt  
15 erkalten. Jedes Suppositorium enthält 20 mg Wirkstoff.

**Beispiel C: Lösung**

- Man bereitet eine Lösung aus 1 g eines NHE-3-Inhibitors der Formel I,  
20 9,38 g  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , 28,48 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$  und 0,1 g Benzalkoniumchlorid in 940 ml zweifach destilliertem Wasser. Man stellt auf pH 6,8 ein, füllt auf 1 l auf und sterilisiert durch Bestrahlung. Diese Lösung kann in Form von Augentropfen verwendet werden.

25 **Beispiel D: Salbe**

Man mischt 500 mg eines NHE-3-Inhibitors der Formel I mit 99,5 g Vaseline unter aseptischen Bedingungen.

30 **Beispiel E: Tabletten**

- Ein Gemisch von 1 kg eines NHE-3-Inhibitors der Formel I, 4 kg Lactose, 1,2 kg Kartoffelstärke, 0,2 kg Talk und 0,1 kg Magnesiumstearat wird in üblicher Weise zu Tabletten verpreßt, derart, daß jede Tablette 10 mg  
35 Wirkstoff enthält.

**Beispiel F: Dragees**

5 Analog Beispiel E werden Tabletten gepreßt, die anschließend in üblicher Weise mit einem Überzug aus Saccharose, Kartoffelstärke, Talk, Tragant und Farbstoff überzogen werden.

**Beispiel G: Kapseln**

10 2 kg eines NHE-3-Inhibitors der Formel I werden in üblicher Weise in Hartgelatine kapseln gefüllt, so daß jede Kapsel 20 mg des Wirkstoffs enthält.

**Beispiel H: Ampullen**

15 Eine Lösung von 1 kg NHE-3-Inhibitor der Formel I in 60 l zweifach destilliertem Wasser wird steril filtriert, in Ampullen abgefüllt, unter sterilen Bedingungen lyophilisiert und steril verschlossen. Jede Ampulle enthält 10 mg Wirkstoff.

20

25

30

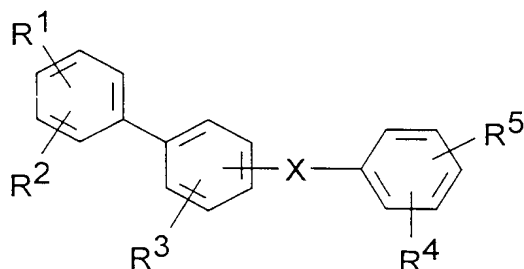
35

# Patentansprüche

## 1. Verbindungen der Formel I

5

10

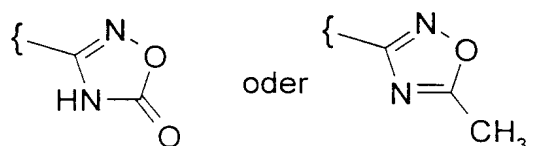


worin

15

$R^1, R^4$  jeweils unabhängig voneinander  $-C(=NH)-NH_2$ , das auch einfach durch  $-COA$ ,  $-CO-[C(R^6)_2]_n-Ar$ ,  $-COOA$ ,  $-OH$  oder durch eine konventionelle Aminoschutzgruppe substituiert sein kann,  $NH-C(=NH)-NH_2$ ,  $-CO-N=C(NH_2)_2$ ,

20



25

$R^2, R^3, R^5$  jeweils unabhängig voneinander  $H$ ,  $A$ ,  $OR^6$ ,  $N(R^6)_2$ ,  $NO_2$ ,  $CN$ ,  $Hal$ ,  $NHCOA$ ,  $NHCOAr$ ,  $NHSO_2A$ ,  $NHSO_2Ar$ ,  $COOR^6$ ,  $CON(R^6)_2$ ,  $CONHAr$ ,  $COR^6$ ,  $COAr$ ,  $S(O)_nA$ ,  $S(O)_nAr$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_m-COOR^6$ ,  $-[C(R^6)_2]_p-COOR^6$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_m-CON(R^6)_2$ ,  $-[C(R^6)_2]_p-CON(R^6)_2$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_m-CONHAr$  oder  $-[C(R^6)_2]_p-CONHAr$ ,

30

$X$   $-[C(R^6)_2]_n-$ ,  $-CR^6=CR^6-$ ,  $-[C(R^6)_2]_n-O-$ ,  $-O-[C(R^6)_2]_n-$ ,  $-COO-$ ,  $-OOC-$ ,  $-CONR^6-$  oder  $-NR^6CO-$ ,

35

	$R^6$	H, A oder Benzyl,
5	A	Alkyl mit 1-20 C-Atomen, worin eine oder zwei $CH_2$ -Gruppen durch O- oder S-Atome oder durch $-CR^6=CR^6-$ Gruppen und/oder 1-7 H-Atome durch F ersetzt sein können,
10	Ar	unsubstituiertes oder ein-, zwei- oder dreifach durch A, $Ar'$ , $OR^6$ , $OAr'$ , $N(R^6)_2$ , $NO_2$ , CN, Hal, $NHCOA$ , $NHCOAr'$ , $NHSO_2A$ , $NHSO_2Ar'$ , $COOR^6$ , $CON(R^6)_2$ , $CONHAr'$ , $COR^6$ , $COAr'$ , $S(O)_nA$ oder $S(O)_nAr'$ substituiertes Phenyl oder Naphthyl,
15	$Ar'$	unsubstituiertes oder ein-, zwei- oder dreifach durch A, $OR^6$ , $N(R^6)_2$ , $NO_2$ , CN, Hal, $NHCOA$ , $COOR^6$ , $CON(R^6)_2$ , $COR^6$ oder $S(O)_nA$ substituiertes Phenyl oder Naphthyl,
20	Hal	F, Cl, Br oder I,
	n	0, 1 oder 2,
25	m	1 oder 2,
	p	1 oder 2 bedeutet,
30		sowie deren Salze und Solvate als NHE-3-Inhibitoren.

## 2. Verbindungen gemäß Anspruch 1

- 35
- a) 3'-(3-Carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-carboxamidin;
  - b) 3'-(3-Carbamimidoyl-benzyloxy)-biphenyl-3-carboxamidin;

- 5 c) 3'-Carbamimidoyl-5-(3-carbamimidoyl-phenoxy-methyl)-  
biphenyl-3-carbonsäure;  
d) N-[3'-(3-Guanidinocarbonyl-phenoxy-methyl)-biphenyl-3-  
carbonyl]-guanidin;  
e) [3'-Amidino-5-(4-amidinophenoxy-methyl)-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäuremethylester;  
f) [3'-Amidino-5-(4-amidinophenoxy-methyl)-biphenyl-3-yloxy]-  
essigsäure
- 10 sowie deren Salze und Solvate als NHE-3-Inhibitoren.
3. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ih-  
re physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Her-  
stellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Thrombosen,  
15 ischämischen Zuständen des Herzens, des peripheren und zentralen  
Nervensystems und des Schlaganfalls, ischämischen Zuständen pe-  
ripherer Organe und Gliedmaßen und zur Behandlung von Schock-  
zuständen.
- 20 4. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ih-  
re physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Her-  
stellung eines Arzneimittels zum Einsatz bei chirurgischen Operatio-  
nen und Organtransplantationen und zur Konservierung und Lage-  
rung von Transplantaten für chirurgische Maßnahmen.
- 25 5. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ih-  
re physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Her-  
stellung eines Arzneimittels zur Behandlung von Krankheiten, bei de-  
nen die Zellproliferation eine primäre oder sekundäre Ursache dar-  
stellt, zur Behandlung oder Prophylaxe von Störungen des Fettstoff-  
30 wechsels oder gestörtem Atemantrieb.
- 35 6. Verwendung von Verbindungen der Formel I nach Anspruch 1 und ih-  
re physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate zur Her-  
stellung eines Arzneimittels zur Behandlung von ischämischer Niere,

ischämischen Darmerkrankungen oder zur Prophylaxe von akutem oder chronischen Nierenerkrankungen.

- 5        7. Pharmazeutische Zubereitung, gekennzeichnet durch einen Gehalt mindestens eines NHE-3-Inhibitors nach Anspruch 1 und/oder einem ihrer physiologisch unbedenklichen Salze und/oder Solvate.

10

15

20

25

30

35



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In tional Application No

PCT/EP 00/08616

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 C07C257/18 C07C279/22 A61K31/155 A61P13/12 A61P7/02  
A61P9/10 A61P25/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 C07C A61K A61P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

CHEM ABS Data, EP0-Internal

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category °	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	VON DER SAAL, WOLFGANG ET AL: "Syntheses and selective inhibitory activities of terphenyl-bisamidines for serine proteases" ARCH. PHARM. (WEINHEIM, GER.), vol. 329, no. 2, 1996, pages 73-82, XP000981547 page 74 -page 76 ---	1
A	EP 0 937 464 A (HOECHST MARION ROUSSEL DE GMBH) 25 August 1999 (1999-08-25) page 90, line 25 page 126 -page 247; claims 1-16 ---	1,3-7
A	DE 196 22 222 A (HOECHST AG) 4 December 1997 (1997-12-04) page 4 -page 5; claims 1-15 ---	1,3-7
	-/--	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

° Special categories of cited documents:

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*Z\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

6 February 2001

Date of mailing of the international search report

14/02/2001

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Bader, K

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In ternational Application No

PCT/EP 00/08616

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	<p>WO 97 24113 A (HOECHST AG ;WIRTH KLAUS (DE); SCHOLZ WOLFGANG (DE); JANSEN HANS WI) 10 July 1997 (1997-07-10)</p> <p>page 182 -page 187</p> <p>page 189 -page 190</p> <p>page 191 -page 379; claims 1-10</p> <p>---</p>	1,3-7
P,X	<p>WO 99 57096 A (BERNOTAT DANIELOWSKI SABINE ;MERCK PATENT GMBH (DE); DORSCH DIETER) 11 November 1999 (1999-11-11)</p> <p>cited in the application</p> <p>page 28 -page 29; claim 2</p> <p>page 30 -page 31; claims 4-9</p> <p>-----</p>	1-3,7

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In International Application No

PCT/EP 00/08616

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 0937464 A	25-08-1999	DE 19737224 A	18-03-1999
		AU 8190898 A	11-03-1999
		BR 9803233 A	02-05-2000
		CA 2245776 A	27-02-1999
		CN 1209316 A	03-03-1999
		CZ 9802709 A	17-03-1999
		HR 980464 A	30-06-1999
		HU 9801924 A	28-02-2000
		JP 11139990 A	25-05-1999
		NO 983926 A	01-03-1999
		PL 328251 A	01-03-1999
		SK 116798 A	10-03-1999
		ZA 9807723 A	01-03-1999
DE 19622222 A	04-12-1997	AU 722166 B	20-07-2000
		AU 2957697 A	05-01-1998
		BR 9709516 A	10-08-1999
		CA 2257299 A	11-12-1997
		CN 1221339 A	30-06-1999
		WO 9746226 A	11-12-1997
		EP 0918515 A	02-06-1999
		JP 2000506906 T	06-06-2000
		NO 985480 A	28-01-1999
		PL 330412 A	10-05-1999
		SK 165898 A	07-05-1999
WO 9724113 A	10-07-1997	DE 19548812 A	03-07-1997
		AU 717247 B	23-03-2000
		AU 1372097 A	28-07-1997
		CA 2241531 A	10-07-1997
		CN 1207676 A	10-02-1999
		CZ 9802021 A	11-11-1998
		EP 0869779 A	14-10-1998
		HU 9900807 A	28-07-1999
		NO 982989 A	06-08-1998
		PL 327693 A	21-12-1998
		SK 88398 A	10-03-1999
WO 9957096 A	11-11-1999	DE 19819548 A	04-11-1999
		AU 3815499 A	23-11-1999
		NO 20005435 A	27-10-2000

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In nationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/08616

<b>A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES</b> IPK 7 C07C257/18 C07C279/22 A61K31/155 A61P13/12 A61P7/02 A61P9/10 A61P25/02		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK		
<b>B. RECHERCHIERTE GEBIETE</b> Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole ) IPK 7 C07C A61K A61P		
Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) CHEM ABS Data, EPO-Internal		
<b>C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN</b>		
Kategorie°	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	VON DER SAAL, WOLFGANG ET AL: "Syntheses and selective inhibitory activities of terphenyl-bisamidines for serine proteases" ARCH. PHARM. (WEINHEIM, GER.), Bd. 329, Nr. 2, 1996, Seiten 73-82, XP000981547 Seite 74 -Seite 76 ---	1
A	EP 0 937 464 A (HOECHST MARION ROUSSEL DE GMBH) 25. August 1999 (1999-08-25) Seite 90, Zeile 25 Seite 126 -Seite 247; Ansprüche 1-16 ---	1,3-7
A	DE 196 22 222 A (HOECHST AG) 4. Dezember 1997 (1997-12-04) Seite 4 -Seite 5; Ansprüche 1-15 --- -/--	1,3-7
<input checked="" type="checkbox"/> Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen <input checked="" type="checkbox"/> Siehe Anhang Patentfamilie		
° Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : *A* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist *E* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist *L* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) *O* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht *P* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist *T* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist *X* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden *Y* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist *Z* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
6. Februar 2001		14/02/2001
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter  Bader, K

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

In: itionales Aktenzeichen

PCT/EP 00/08616

## C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 97 24113 A (HOECHST AG ;WIRTH KLAUS (DE); SCHOLZ WOLFGANG (DE); JANSEN HANS WI) 10. Juli 1997 (1997-07-10) Seite 182 -Seite 187 Seite 189 -Seite 190 Seite 191 -Seite 379; Ansprüche 1-10 ---	1,3-7
P,X	WO 99 57096 A (BERNOTAT DANIELOWSKI SABINE ;MERCK PATENT GMBH (DE); DORSCH DIETER) 11. November 1999 (1999-11-11) in der Anmeldung erwähnt Seite 28 -Seite 29; Anspruch 2 Seite 30 -Seite 31; Ansprüche 4-9 -----	1-3,7

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 00/08616

Im Recherchenbericht angeführtes Patentedokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
EP 0937464 A	25-08-1999	DE 19737224 A	18-03-1999
		AU 8190898 A	11-03-1999
		BR 9803233 A	02-05-2000
		CA 2245776 A	27-02-1999
		CN 1209316 A	03-03-1999
		CZ 9802709 A	17-03-1999
		HR 980464 A	30-06-1999
		HU 9801924 A	28-02-2000
		JP 11139990 A	25-05-1999
		NO 983926 A	01-03-1999
		PL 328251 A	01-03-1999
		SK 116798 A	10-03-1999
		ZA 9807723 A	01-03-1999
DE 19622222 A	04-12-1997	AU 722166 B	20-07-2000
		AU 2957697 A	05-01-1998
		BR 9709516 A	10-08-1999
		CA 2257299 A	11-12-1997
		CN 1221339 A	30-06-1999
		WO 9746226 A	11-12-1997
		EP 0918515 A	02-06-1999
		JP 2000506906 T	06-06-2000
		NO 985480 A	28-01-1999
		PL 330412 A	10-05-1999
		SK 165898 A	07-05-1999
WO 9724113 A	10-07-1997	DE 19548812 A	03-07-1997
		AU 717247 B	23-03-2000
		AU 1372097 A	28-07-1997
		CA 2241531 A	10-07-1997
		CN 1207676 A	10-02-1999
		CZ 9802021 A	11-11-1998
		EP 0869779 A	14-10-1998
		HU 9900807 A	28-07-1999
		NO 982989 A	06-08-1998
		PL 327693 A	21-12-1998
		SK 88398 A	10-03-1999
WO 9957096 A	11-11-1999	DE 19819548 A	04-11-1999
		AU 3815499 A	23-11-1999
		NO 20005435 A	27-10-2000